

# Többcsatornás mikrofluidikai rendszerek fejlesztése kromatográfiás alkalmazásokhoz

NAGY Andrea\*

Debreceni Egyetem, Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék, Egyetem tér 1., 4032 Debrecen, Magyarország

## 1. Bevezetés

A mikrofluidika az analitikai kémia egyik, jelenleg intenzíven kutatott területe, amely nano- és pikoliternyi térfogatú folyadékok áramoltatására, elemzésére alkalmas eszközök tervezésével, előállításával, tanulmányozásával foglalkozik.<sup>1,2</sup> A kutatások célja, hogy mikro- és nanofabrikációs eljárások segítségével a számítógép csipek méretével összevethető nagyságú, integrált laboratóriumokat (lab-on-a-chip) tervezzenek és készítsenek, ezáltal csökkentsék a felhasznált minta- és reagensmennyiséget, az elemzések költségeit és legfőként az analízisek időtartamát.<sup>3-5</sup>

A mikrofluidikai csipek analitikai alkalmazásának számos előnye ismeretes, mégis viszonylag kevés mikrocsip alapú kromatográfiás rendszert fejlesztettek ki,<sup>6</sup> ennek okai a kromatográfiás töltetek kialakításának nehézségeiben keresendők.<sup>7</sup> Több olyan rendszer ismert, ahol a kromatográfiás töltetek mikrocsipbe integrálásához valamilyen fritet helyeztek a csatornába, ezzel visszatartva a részecskéket.<sup>8,9</sup> A fritekkel való nehézségek miatt viszont több kutatócsoport is olyan módszereket fejlesztett, amelyek segítségével a kromatográfiás töltetek frit nélkül hozhatóak létre (például többrétegű mikrofluidikai csipek használatával,<sup>10,11</sup> monolitok<sup>12</sup> vagy akár ideiglenes szűkületek<sup>13,14</sup> csatornában történő kialakításával).

Munkánk során kromatográfiás elválasztási technikák miniaturizálását, kromatográfiás töltetek mikrofluidikai csipben való kialakítását és alkalmazását tűztük ki célul. Ehhez reprodukálható, gyors töltési módszert fejlesztettünk ki. További célunk volt olyan többcsatornás mikrofluidikai rendszerek kifejlesztése, amelyek párhuzamos csatornáiban több, akár különböző kromatográfiás töltet kialakítására van lehetőség, amelyeken egyidejűleg végezhetünk párhuzamos elválasztásokat. A mikrofluidikai rendszerek jelenlegi alkalmazásának egyik hátránya a rendszerekhez kapcsolt érzékeny detektálási módszerek hiánya. Az általunk kifejlesztett mikrocsipekhez megvizsgáltuk az atomspektroszkópiás detektorok alkalmazhatóságát.

## 1. Kutatási eredmények

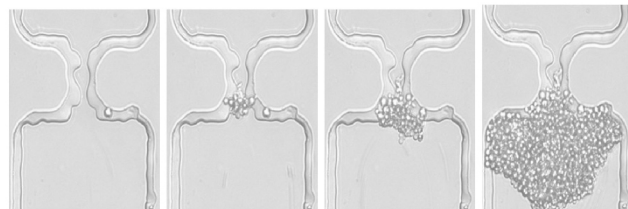
### 2.1. Kromatográfiás töltetek kialakítása a csatornában

Kromatográfiás részecskék poli(dimetil-sziloxán)-ból (PDMS) készített mikrofluidikai csip csatornájában történő visszatartására kezdetben egy átmeneti csatornaszűkületet hoztak létre, a mikrocsip felületére merőlegesen alkalmazott

nyomóerővel.<sup>13,14</sup> Az ilyen módon kialakított szilika aerogél töltetek azonban instabilak voltak, használat során degradálódtak vagy részlegesen kimosódtak.

Éppen ezért állandó szűkületet alakítottunk ki a csatornában, először a csatornamagasság megfelelő mértékű csökkentésével (az öntőforma síkjából kiemelkedő csatornamintázat megfelelő helyen történő megkarcolásával létrehozott fritszerű réteg segítségével<sup>15</sup>), majd a csatornák szélességének egy adott ponton történő csökkentésével.

A szűkületek kialakításának legegyszerűbb és leginkább reprodukálható módjának a mintázatok tervezése során történő megrajzolását találtuk. A kb. 10-20  $\mu\text{m}$  széles és 50  $\mu\text{m}$  hosszú csatornákat a 100  $\mu\text{m}$  széles csatornába rajzoltuk, ezután a kinyomtatott litográfiás maszkot felhasználva készítettük el az öntőformát, majd a mikrocsipeket. A töltési folyamat során az első részecskék a méretüknél legfeljebb háromszor nagyobb átmérőjű szűkületek elején megragadva tartják vissza a mögöttük jövő részecskéket (záróköhatás).<sup>13</sup>

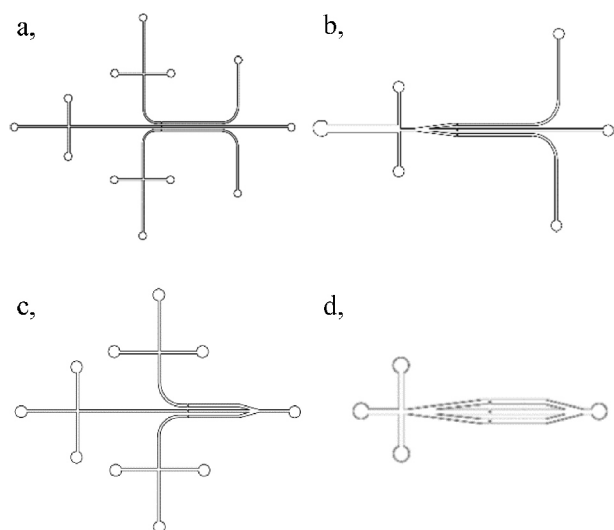


**1. Ábra.** A kromatográfiás töltetek kialakításának folyamata, a záróköhatás (10  $\mu\text{m}$ -es C18-as kromatográfiás részecskék, 100  $\mu\text{m}$  csatornaátmérő).

### 2.2. Többcsatornás mikrofluidikai rendszerek

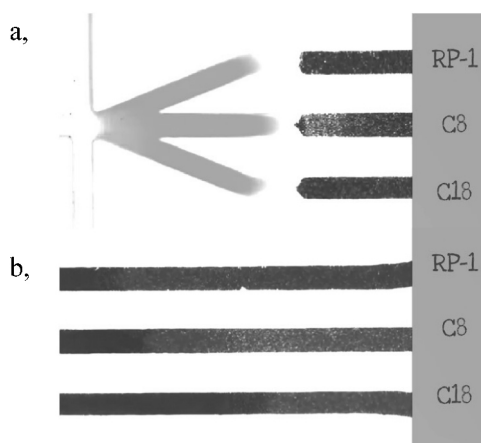
Három különböző kromatográfiás töltet kialakítására alkalmas csatornarendszereket terveztünk, ahol a csatornák egymástól függetlenek (2.a és 2.b ábra) így a kromatográfiás részecskék egymás után juttathatóak be a párhuzamos csatornába, illetve olyan rendszereket is, ahol a kromatográfiás részecskék bejuttatására szolgáló csatornarészek egymással kapcsolatban állnak, közös portban végződnek (2.c és 2.d ábra), így az azonos kromatográfiás töltetek egyidejűleg alakíthatóak ki a rendszerekben. Mindkét típusú mintázathoz terveztünk olyan változatot, ahol három eltérő minta három különböző kereszteződésen juttatható a szeparációs csatornába (2.a és 2.c ábra), illetve olyat is, ahol a bejuttatott egyetlen minta egyenletesen oszlik el a párhuzamos csatornák között (2.b és 2.d ábra).

\* Tel: +36 52 512-900/22372; Fax: +36 52 518-660; e-mail: nagy.andrea@science.unideb.hu



**2. Ábra.** Háromcsatornás mikrofluidikai rendszerek AutoCAD programmal készített rajzai.

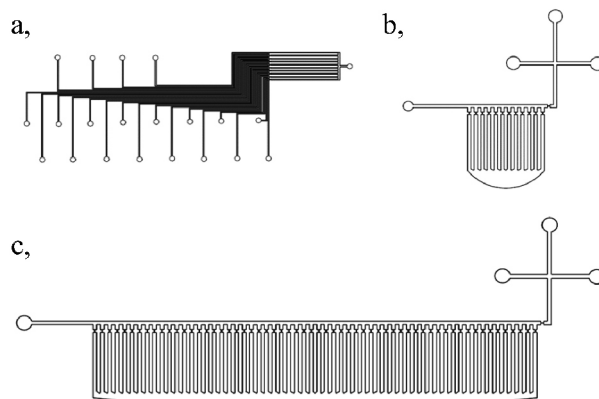
A többcsatornás rendszerek egyik nagy előnye az egyidejűleg végezhető, párhuzamos elválasztások lehetősége. Az egymástól független rendszerekben három különböző kromatográfiás töltetet (5  $\mu\text{m}$ -es RP-1, C8 és C18 szénhidrogénláncsal módosított szilikagél részecskékből) alakítottunk ki. Ezekre zöld ételfesték keveréket injektáltunk (sárga (E102, tartrazin) és kék (E133, Brillantkék FCF) komponensekből), ami közel azonos mennyiségben oszlott el a csatornák között (3.a ábra). A kék festék retenciója az RP-1-es tölteten volt a legerősebb, 25% metanol-víz mozgófázis alkalmazása mellett a leggyorsabban elérhető teljes elválasztást a C8-as szénhidrogénláncsal módosított szilikagél részecskékből készült tölteten kaptuk (3.b ábra).



**3. Ábra.** Zöld ételfesték keverék egyidejű elválasztása három különböző (RP-1, C8, C18) kromatográfiás tölteten 100  $\mu\text{m}$  széles csatornában.

Olyan tíz párhuzamos csatornát tartalmazó mikrocsipet terveztünk, ahol azonos kromatográfiás tölteteket kialakítására van lehetőségünk, viszont a mintát a töltetekre egymástól függetlenül injektálhatjuk (4.a ábra), tehát egyidejűleg akár tíz párhuzamos elemzés is elvégezhető tíz

különböző mintából. A tizenkét párhuzamos csatornát tartalmazó mikrocsip mintázata is azonos kromatográfiás töltetek kialakítására ad lehetőséget, de itt az injektált minta tizenkét részre oszlik, így ugyanazon mintából végezhető tizenkét párhuzamos mérés egyidejűleg (4.b ábra). Ezen párhuzamos csatornák száma növelhető akár 60-ig is (4.c ábra), míg a további csatornarészek megfelelő elhelyezésére lehetőség van (például a portok és az injektáló egységek megfelelő távolságban kell legyenek egymástól).

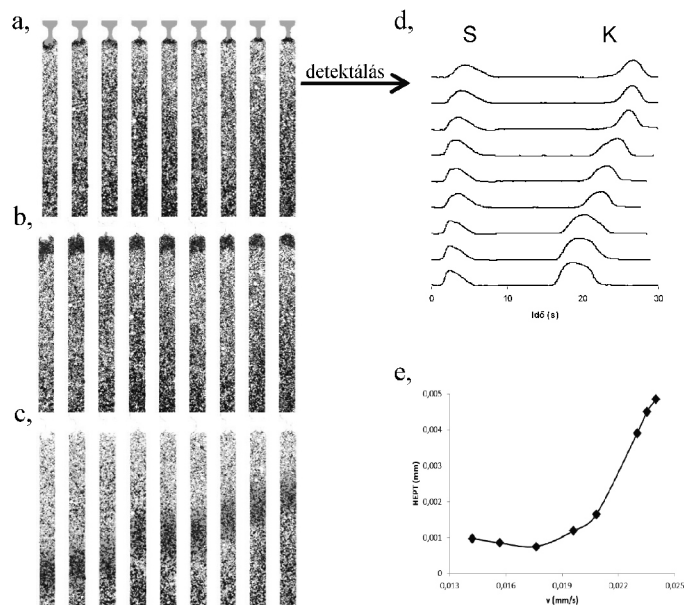


**4. Ábra.** Tíz (a), tizenkettő (b), és 60 párhuzamos csatornát tartalmazó mintázatok AutoCAD programmal készített rajzai.

A sokcsatornás rendszerekben is a párhuzamos csatornák tervezése során létrehozott szűkületek segítségével tartottunk vissza kromatográfiás részecskéket. A közös kivezető porton keresztül bejuttatott kromatográfiás részecskék eloszlottak a csatornák között és gyorsan tömör töltetek keletkeztek.

A párhuzamos kromatográfiás töltetekre való elválasztások demonstrálására sárga és kék ételfesték keverékének mindössze 1  $\mu\text{l}$ -ét injektáltuk a rendszerbe, amely egyenlően oszlott el a tizenkét párhuzamos kromatográfiás töltet között (5.a ábra). A keverék sárga komponense visszatartás nélkül haladt át a C18-as szénhidrogénláncsal módosított részecskékből álló tölteteken (5.b ábra), a megkötődött kék komponens metanolos mosással oldottuk le róluk (5.c ábra). Az elválasztáshoz mindössze 30 másodpercre volt szükség.

Az elválasztott komponensek detektálása a tizenkét csatornában a színintenzitás változásának egyidejű mérésével történt (5.d ábra). A 2 mm hosszúságú töltetre vonatkozó elméleti tányérmagasság értéke 0,75  $\mu\text{m}$ -nek adódott (0,0176 mm/s, vagyis 4,2 nl/perc áramlási sebesség esetén), az elméleti tányérszám 2500 (1 330 000/m) volt. A Brillantkék FCF (E133) festékre meghatározott teljes kapacitásra ugyanezen a tölteten  $7,5 \cdot 10^{-12}$  mol/ $\mu\text{m}$  értéket kaptunk. A párhuzamos csatornában az áramlási sebességek nem azonosak, ezeket a különböző áramlási sebességeket felhasználva egyetlen mérés alapján megalkotható a van Deemter diagram. A diagram görbéjének minimumát meghatározva a hatékony kromatográfiás elválasztáshoz szükséges optimális áramlási sebesség egyszerűen meghatározható (5.e ábra), esetünkben ez 4,2 nl/perc-nek (0,0176 mm/s) adódott.<sup>16</sup>



**5. Ábra.** Zöld ételfesték keverék egyidejű elválasztása tizenkét párhuzamos 100 µm széles kromatográfiás tölteten (a-c.), az elválasztások során kapott kromatogramok (d.) és a mért adatokból szerkesztett van Deemter görbe (e.).

A szimulációs szoftverek lehetőséget nyújtanak a mikroszkópikus rendszerek modellezésére és így hatékonyabb tervezésére. A mikroszipek csatornáiban fellépő áramlási viszonyok szimulálására a COMSOL Multiphysics szoftvert alkalmaztuk, amellyel folyadékok áramoltatását/áramlását tudjuk modellezni mikrofluidikai rendszerekben.

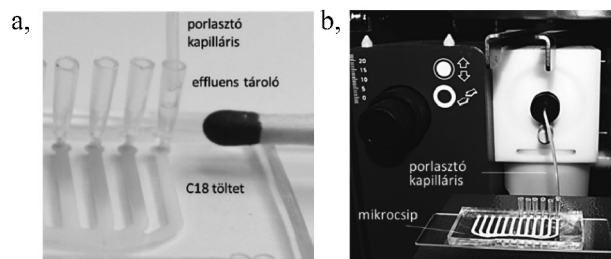
A tizenkét párhuzamos csatornát tartalmazó rendszerben jelentkező sebességkülönbséget szimulációk segítségével is igazoltuk. Vizsgáltuk az áramlási sebességek különbözőségének okait és kísérleteket végeztünk a sebességek párhuzamos csatornában való kiegyenlítésére. COMSOL szimulációk segítségével új csatornamintázatot fejlesztettünk, a párhuzamos csatornák feletti vízszintes csatorna geometriájának megváltoztatása szinte azonos párhuzamos csatornábeli sebességeket eredményezett. Kísérletes úton bizonyítottuk, hogy a szimulációs szoftverek segítségével a mikroszipek tervezése nagymértékben egyszerűsíthető, gyorsítható.<sup>17</sup>

## 2.5. Atomspektroszkópiás detektorok kapcsolása mikrofluidikai csipekhez

Az analitikai rendszerek miniaturizálásának egy kritikus pontja a kis mintamennyiségek kellően érzékeny detektálására képes módszer fejlesztése. Mikroszipejinket lángatomabszorpciós készülékekhez, majd lézerindukált plazma spektrométerhez kapcsoltuk.

Megállapítottuk, hogy a 30 µl az a legkisebb mintatérfogat, ami még az elfogadható érzékenységgű és reprodukálhatóságú FAAS detektáláshoz szükséges, ez azonban még mindig nagyon nagy folyadéktérfogat a tipikus mikrofluidikai alkalmazásokhoz. Az eluált térfogatok növelése érdekében megnöveltük a mikrotölteteink dimenzióit (a kromatográfiás töltetek megnövelt méretei 20 mm x 1 mm x 0,1 mm).

Az eluátumokat ~40 µl térfogatú, műanyag pipettahegyből készült hidrofób edényekbe gyűjtöttük, amelyeket a csatornák végén kialakított portokhoz csatlakoztattunk (6.a ábra). A lángatomabszorpciós spektrométer porlasztójának teflonkapillárisán keresztül a minta teljes térfogatát (~30 µl), pillanatszerűen szippantottuk fel a spektrométer lángjába (diszkrét mikroinjektálás) (6.b ábra).



**6. Ábra.** Fordított fázisú (5 µm, C18) kromatográfiás tölteteken megkötött intenzív sárga színű Cr(VI) minták és a csatornák végéhez csatlakoztatott effluenstároló edények (a.), illetve a mikroszip és az FAAS készülék összekapcsolása (b.).

A rendszer teszteléséhez ionpár kromatográfiás módszerrel Cr(VI)-ot kötöttünk meg a csatornában kialakított fordított fázisú tölteteken, majd az eluált komponenseket juttattuk a FAAS készülékbe. Az elválasztás/dúsítás során az irodalomból ismert körülményeket alkalmaztuk.<sup>18</sup> A mintában lévő Cr(III) ionok és más ionos komponensek visszatartás nélkül áthaladtak a tölteten, míg a Cr(VI) ionpárt képezve a tetrabutil-ammonium-ionokkal (TBA) megkötődött a C18-as szénhidrogénlánccal módosított szilikagél részecskék felületén. A megkötődött Cr(VI) minták metanollal moshatóak le a töltetről.



A mikrocipről készített fénykép szoftveres kiértékelésével (pl. CP Atlas 2.0, vékonyréteg kromatográfias kiértékelő program<sup>19</sup>), azaz a színintenzitások mérésével is kaphatunk információkat a minták Cr(VI) tartalmáról (legalább 20 µg/ml Cr(VI) tartalom szükséges).

A töltetek (5 µm, C18, 20 mm x 1 mm x 0,1 mm) teljes kapacitás értékére 0,45 µg/mm-t határoztunk meg. 80 µl Cr(VI) mintaoldat töltetre vitelével és a metanolos 30 µl térfogatú effluens FAA spektrométerbe porlasztásával 0,0031 µg/ml kimutatási határt értünk el. Tizenkét effluens lángatomabszorpciós mérése esetén a csúcsmagasságokra és csúcs alatti területekre számított relatív standard deviációk értéke 3,7 RSD% és 5,8 RSD% volt. A lángatomabszorpciós spektrométerrel kapcsolt mikrofluidikai rendszerek egyik legnagyobb előnye, hogy tizenkét kromatográfias elválasztáshoz/dúsításhoz és FAAS detektáláshoz mindössze 5 percre volt szükség.<sup>20</sup>

Az FAAS készülék mikrofluidikai csipekhez való kapcsolása mellett megvizsgáltuk a lézerindukált plazma spektrométer detektorként való használatát, melynek nagy előnye a mikrocip és a LIBS készülék közötti kapcsolat kialakításának egyszerűsége. A LIBS mérések során nagyenergiájú lézer sugárral löttük meg a mikrocipet. A lézer hatására mikrop plazma alakul ki a lövés helyén, amely atomizálja és gerjeszti a jelen lévő anyagokat. Az emittált spektrum felvételével, majd az atomvonalak azonosításával minőségi meghatározást végezhetünk.

A mérésekhez a megnövelt méretű (20 mm x 1 mm x 0,1 mm) csatornában fordított fázisú kromatográfias tölteteket (5 µm, C18) alakítottunk ki, a rendszerek tesztelésére a már előzőekben használt, ionpár kromatográfian alapuló módszert használtuk. A megkötött Cr(VI) minták elemzése, lézerrel való meglövése történhetett magán a kromatográfias tölteten, vagy metanolos elúciót követően a csatorna portja körül beszáradt rétegen. A lézersugár hatására keletkező mikrop plazma emissziós spektrumát spektrofotométerrel detektáltuk, a króm jellemző, intenzív vonalait 357,869 nm, 359,349 nm és 360,533 nm hullámhosszaknál figyeltük meg. Krómra nézve 28,9 ng/mm<sup>2</sup> kimutatási határt (LOD) határoztunk meg a 359,349 nm-es vonalnál.

### 3. Mikrofluidikai csipek készítése

A mikrocipek készítésekor Whitesides és kutatócsoportja által közölt eljárást<sup>21</sup> alkalmaztuk. Megterveztük a csatornahálózatokat, ezt követően elkészítettük az öntőformát, amit a mikrocipek öntéséhez használtunk fel. A lágy litográfias módszerekkel készített mikrocipek anyagaként a PDMS-t használtunk, amely (Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>O)-egységekből álló polimer anyag.

A mikrocipek tervezéséhez AutoCAD számítógépes szoftvert (AutoCAD 2013, Autodesk Inc., San Rafael, CA, USA) használtunk, mellyel pontosan megtervezhetők az 50-100 µm átmérőjű csatornamintázatok. A megtervezett mintázatok nagyfelbontású nyomtató (3600 dpi, Képpont Kft., Debrecen) segítségével átlátszó fóliára nyomtatva kaptuk a fotolitográfias

maszkot. Ezt a litográfias maszkot használtuk a mikrocipek készítéséhez szükséges öntőformák előállításához.

Az öntőforma hordozójaként szolgáló szilícium lapka felületén kb. 35 µm vastagságú réteget hoztunk létre a negatív típusú fényérzékeny anyagból (SU-8 2025), majd a fotolitográfias maszkon keresztül UV fénnel (365 nm) sugároztuk be. Az UV fénnel érintkezett részek (csatornamintázat) előhívást követően is a lapon maradtak.

Az így elkészített öntőformára a monomer és a térhálósító adalék 10:1 arányú keverékét öntöttük, melyet 65 °C-os kemencében térhálósítottunk. A térhálósodást követően méretre vágtuk a mikrocipeket, majd egy kézi lyukasztó segítségével kialakítottuk a 0,7 mm átmérőjű portokat, amelyeken keresztül pumpacsövekkel csatlakozhatunk a csatornához.

Utolsó lépésként a csatornamintázatot tartalmazó műanyagot levegő plazmával történő aktiválást követően irreverzibilisen egy üveg tárgylemezhez ragasztottuk.

### 4. Összefoglalás

PhD munkám során fő célom kromatográfias töltetek kialakítására alkalmas többcsatornás mikrofluidikai rendszerek fejlesztése, készítése és tanulmányozása volt.

Az általunk fejlesztett mikrocipek párhuzamos csatornáiban 3, 12 vagy akár ennél is több kromatográfias töltet alakítható ki. Ezeken a tölteteken több, párhuzamos elválasztás végrehajtására van lehetőségünk, mellyel nagymértékben csökkenthető az analitikai vizsgálatokhoz szükséges idő és a meghatározások költsége.

Az ilyen rendszerekben lehetőségünk van különböző töltetek kialakításával kromatográfias töltetek gyors összehasonlítására vagy az adott analitikai feladathoz megfelelő töltet kiválasztására, így az új módszerek kifejlesztése lényegesen felgyorsulhat. A kromatográfias részecskékkel töltött PDMS mikrocipek gyorsan, viszonylag reprodukálhatóan készíthetők, előállítási és működtetési költségeik csekélyek. A mikrofluidikai csipek atomspektroszkópiai módszerekkel való összekapcsolásával új detektálási módszerek lehetőségét mutattuk be.

Mivel a gazdasági fejlődéssel egyre több és minél olcsóbb analitikai meghatározás elvégzésére van szükség a jövőben a mikrofluidikai csipeken történő analitikai elemzések széleskörű elterjedése várható.

### Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Gáspár Attilának a munkám során nyújtott segítségével. Köszönöm Dr. Lázár Istvánnak az aerogélek elkészítését, Dr. Iván Kristófnak és Leelőssyéné Tóth Eszternek a szimulációs számítások kivitelezését, illetve a lézerindukált plazma spektrométerrel történt méréseket Dr. Galbács Gábornak és Metzinger Anikónak.

## Hivatkozások

- Whitesides, G. M. *Nature* **2006**, 442, 368-373. <https://doi.org/10.1038/nature05058>
- Lee, A. *Lab Chip* **2013**, 13, 1660-1661. <https://doi.org/10.1039/c3lc90031b>
- Reyes, D. R.; Iossifidis, D.; Auroux, P.-A.; Manz, A. *Anal. Chem.* **2002**, 74, 2623-2636. <https://doi.org/10.1021/ac0202435>
- Haeblerle, S.; Zengerle, R. *Lab Chip* **2007**, 7, 1094-1110. <https://doi.org/10.1039/b706364b>
- Manz, A.; Graber, N.; Widmer, H. M. *Sens. Actuators* **1990**, B1, 244-248. [https://doi.org/10.1016/0925-4005\(90\)80209-1](https://doi.org/10.1016/0925-4005(90)80209-1)
- de Mello, A. *Lab Chip* **2002**, 2, 48N-54N. <https://doi.org/10.1039/b207266c>
- Kutter, J. P. *J. Chromatogr. A* **2012**, 1221, 72-82. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.10.044>
- Ocvirk, G.; Verpoorte, E.; Manz, A.; Grasserbauer, M.; Widmer, H. M. *Anal. Methods Instrum.* **1995**, 2, 74-82.
- Sato, K.; Tokeshi, M.; Otake, T.; Kimura, H.; Ooi, T.; Nakao, M.; Kitamori, T. *Anal. Chem.* **2000**, 72, 1144-1147. <https://doi.org/10.1021/ac991151r>
- Huft, J.; Haynes, C. A.; Hansen, C. L. *Anal. Chem.* **2013**, 85, 1797-1802. <https://doi.org/10.1021/ac303153a>
- Huft, J.; Haynes, C. A.; Hansen, C. L. *Anal. Chem.* **2013**, 85, 2999-3005. <https://doi.org/10.1021/ac400163u>
- Ericson, C.; Holm, J.; Ericson, T.; Hjertén, S. *Anal. Chem.* **2000**, 72, 81-87. <https://doi.org/10.1021/ac990802g>
- Gáspár, A.; Piyasena, M. E.; Gomez, F. A. *Anal. Chem.* **2007**, 79, 7906-7909. <https://doi.org/10.1021/ac071106g>
- Gáspár, A.; Hernandez, L.; Stevens, S.; Gomez, F. A. *Electrophoresis* **2008**, 29, 1638-1642. <https://doi.org/10.1002/elps.200700489>
- Gáspár, A.; Nagy, A.; Lázár, I. *J. Chromatogr. A* **2011**, 1218, 1011-1015. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.12.091>
- Nagy, A.; Gáspár, A. *J. Chromatogr. A* **2013**, 1304, 251-256. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.06.065>
- Nagy, A.; Tóth, L. E.; Iván, K.; Gáspár, A. *Microchem. J.* **2015**, 123, 125-130. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.05.019>
- Posta, J.; Berndt, H.; Luo, S. K.; Schaldach, G. *Anal. Chem.* **1993**, 65, 2590-2595. <https://doi.org/10.1021/ac00067a008>
- [www.lazarsoftware.com](http://www.lazarsoftware.com)
- Nagy, A.; Baranyai, E.; Gáspár, A. *Microchem. J.* **2014**, 114, 216-222. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2014.01.008>
- Duffy, D. C.; McDonald, J. C.; Schueller, O. J. A.; Whitesides, G. M. *Anal. Chem.* **1998**, 70, 4974-4984. <https://doi.org/10.1021/ac980656z>

## Development of multichannel microfluidic systems for chromatographic applications

M.; Widmer, H. M. *Anal. Methods Instrum.* **1995**, 2, 74-82.

In our work multichannel microfluidic systems were developed and studied for chromatographic applications. The microfluidic chips were designed and then prepared from polydimethylsiloxane. We developed a new packing process for the preparation of chromatographic packings, which does not require any frit. During this procedure the particles were permanently retained by a bottleneck in the channels.

This bottleneck was created by the reduction of the channel height. (Decreasing the channel height to 15-20  $\mu\text{m}$  was enough for the retainment of the 5  $\mu\text{m}$  diameter chromatographic particles.) It was achievable by the tapering of the channel pattern at the proper location. On the other way, the bottlenecks were created by the appropriate reduction of the channel width. It was reduced from 100  $\mu\text{m}$  to 15-20  $\mu\text{m}$ , which allowed the reproducible preparation of chromatographic packings from the 5  $\mu\text{m}$  diameter particles. The length of the packings was freely variable from 200  $\mu\text{m}$  to more centimeters. Using of this process it was possible to prepare chromatographic packings in multichannel systems. We found that a suitable bottleneck can be created even if the contour of the bottleneck (a 10  $\mu\text{m}$  wide and 50  $\mu\text{m}$  long channel) was drawn directly onto the photolithographic mask and proper lithographic conditions were applied.

In our microfluidic systems 3-12 parallel chromatographic packings were prepared. The number of these parallel chromatographic packings is ultimately limited by the number and the position of the outlet and injection ports. If the system contains only one injection port the number of the chromatographic packings can be increased even to 60. These multichannel systems can contain independent or merged channels. In the independent channel systems different parallel

chromatographic packings can be created, while in the merged channels the packings can be formed at the same time through a common outlet port. In both type of microchips we have the possibility to measure one or more sample at the same time. For the sample injection a multiple cross section was necessary, the injected sample distributed between the channels and only a small part of the liquid flowed to the direction of the packings. In those systems where the parallel channels were packed the injected sample can be split to several equal parts before the packings, because the hydrodynamic resistance of the parallel packings was equal.

We separated two component food dye mixture on chromatographic packings prepared from 5  $\mu\text{m}$  diameter particles. The two components could be separated within 30 s. The smallest theoretical plate height was 0.75  $\mu\text{m}$ , the obtained highest plate number value was 2500 (1330000/m). The overall capacity of a packing was calculated to be  $7.5 \cdot 10^{-12}$  mol/ $\mu\text{m}$  for the Brilliant Blue FCF (E133) dye.

Three different types of chromatographic packings (from 5  $\mu\text{m}$  diameter RP-1, C8 and C18 particles) were made in microfluidic systems. Parallel chromatographic separations of food dye mixtures were made in these systems (the mobile phase was 25% methanol-water mixture). These systems were suitable for the fast comparison of chromatographic packings or the selection of the appropriate chromatographic packing for the analytical problem, thus the development of the new methods can be faster.

Simulation softwares were applied for the modeling of the flows in our multichannel systems. During our experiments we observed that the flow rates in the parallel channels were different (0.014-0.024 mm/s), reduced towards the outlet

ports (the ratio of the maximum and minimum velocity was 2.2). For equalizing of the flow rates in the system we designed a new channel pattern, where this flow rate ratio was reduced for 1.05. The results of the simulations agreed well with the experimental results.

Interfacing the flame atomic absorption spectrometer (FAAS) with our microfluidic systems containing chromatographic packings were demonstrated. In this work the first step was the increasing of the sample volume with the modification of the microfluidic channels/packings dimensions. The minimal sample volume was 30  $\mu\text{L}$ , this was enough for the reproducible and sensitive FAAS detection. In the modified channel systems the 5  $\mu\text{m}$  C18 packings were 20 mm long, 1 mm wide and 0.1 mm thick. With the developed method preconcentration and separation of the chromium(VI) were demonstrated. The limit of the

detection value for the Cr(VI) was 0.0031  $\mu\text{g/ml}$  with the injection of 80  $\mu\text{L}$  sample into the microchip.

The absorbed Cr(VI) on the packings were analyzed with laser induced breakdown spectroscopy (LIBS), too. After the elution of the Cr(VI) to the outlet port of the microchip, the dried sample was determined with the laser beam of the spectrometer. The obtained limit of detection value was 28,9  $\text{ng/mm}^2$  for chromium. The detection of the Cr(VI) can be directly performed on the chromatographic packings, too.

These PDMS microchips packed with chromatographic particles can be prepared in a fast and reproducible way, the costs of the preparation and operation are inexpensive. With the economic development there will be a high demand for the performance of more and cheaper analytical determinations, the widespread distribution of the microfluidic systems for analytical analysis can be expected.